Strahlenschädigung des Rückenmarks von Ratten bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Beate Bruce-Micah

Saarbrücken

1973

Aus dem Strahleninstitut der Universität des Saarlandes

Direktor: Prof. Dr. med. Franz SOMMER

Strahlenschädigung des Rückenmarks von Ratten bei Bestrahlung mit schnellen Elektronen

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1972

vorgelegt von

Beate Bruce-Micah

geb. am 20.10.1947 in Ottweiler

Dekan: Prof. Dr. med. Helmut KULENKAMPFF

Referent: Prof. Dr. med. Franz SOMMER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum 23.3. 1973.

meinem Vater gewidmet

Inhalt

	Seite
A. Einleitung	1
B. Hauptteil	
I. Arbeitsplan	
1. Material	3
2. Versuchsaufbau	3
3. Bestrahlungsplan	3
4. Fixation der Tiere	4
5. Zusammensetzung der Durchspülungslösungen	6
6. Präparation	7
7. Färbungen	8
II. Auswertung der Ergebnisse	
1. 1000 r	1o
2. 2000 r	14
3. 3000 r	16
4. 4000 r	2o
5. Spätreaktion nach 6 Wochen	23
6. Spätreaktion nach 18 Wochen	25
III. Diskussion	27
IV. Zusammenfassung	38
V. Literaturverzeichnis	4o
Danksagung	44

EINLEITUNG

Die Strahlentherapie ist neben operativen Eingriffen die wichtigste, sehr oft sogar die einzige Behandlungsmöglichkeit maligner und auch benigner Tumoren im Zentralnervensystem. Entgegen der früheren Annahme, daß das Nervensystem ziemlich strahlenresistent sei (2o), weiß man heute, daß alle Strahlenarten in Gehirn und Rückenmark deutliche Schäden hervorrufen, die meistens erst Monate und Jahre später zu klinischen Symptomen und Ausfallserscheinungen führen.

Verfolgt man die Arbeiten, die in den letzten zwanzig Jahren über dieses Problem veröffentlicht wurden, so kann man feststellen, daß häufiger noch als am Gehirn Spätschäden am Rückenmark auftreten, die nicht selten einen letalen Ausgang nehmen, (11). Das tritt hauptsächlich ein bei Bestrahlungen im Halsbereich, bei denen das Rückenmark nicht ausgeblendet werden kann (12, 4, 26, 18, 27, 28). Aber auch alle anderen Abschnitte des Rückenmarks können mit irreversiblen Veränderungen auf therapeutische Strahlendosen reagieren (17, 9).

Über die Ursache der Schädigungen der Chorda spinalis gehen die Meinungen der Verfasser weit auseinander. Während einige annehmen, daß die Strahlenschädigung primär an den Nervenzellen einsetzt (16, 7), halten andere Autoren die Gefäßveränderungen und die dadurch bedingte Minderdurchblutung des Rückenmarks für die eigentliche Ursache der Gewebs-Alterationen (21, 22, 23, 25).

Bisher sind nur wenige tierexperimentelle Versuche unternommen worden, mit deren Ergebnis man genaue Aussagen über die primären Reaktionen der Nervenzellen des Rückenmarks und des sie umgebenden Gewebes auf Bestrahlung machen könnte. Zweck dieser Arbeit war es deshalb, an Hand von Tierversuchen die schädigende Wirkung der heute in diesem Bereich angewandten Hochvolttherapie mit schnellen Elektronen festzustellen.

MATERIAL

Zu den Experimenten wurden zwanzig männliche Albinoratten verwandt, die im Durchschnitt sechs Monate alt waren und zu Beginn der Versuche 4oo bis 45o g wogen.

VERSUCHSAUFBAU

Zwei Polyäthylenklötze mit einer Länge von 37 cm, einer Breite von 5 cm und einer Höhe von 3o cm wurden so aufgebaut, daß sich ein Bestrahlungsfeld von 3 x 28 cm Größe ergab. Durch Dosimetrierung mit der Micro-Schlauchkammer des Duplex-Dosimeters konnten wir nachweisen, daß bei einer Elektronenbestrahlung mit einer Energie von 42 MeV und Einschaltung der Folie O das ganze Feld homogen durchstrahlt wurde. Es bestand kein Dosisabfall zur Seite hin. Dadurch war bei der Vorwahl 115 eine Herddosis von 2oo r für das ganze Rückenmark garantiert. Der Fokus-Haut-Abstand betrug dabei 137 cm.

BESTRAHLUNGSPLAN

Mit dem SIEMENS - Betatron wurden an fünf Tagen in der Woche schnelle Elektronen mit einer Energie von 42 MeV eingestrahlt bis zu einer Herddosis von 2oo r.

Die Tiere wurden dazu in Atherkurznarkose auf einer Polyäthylenunterlage fixiert.
Nach Gesamtdosen von jeweils 1ooo r, 2ooo r, 3ooo r und 4ooo r HD wurden die Ratten supravital fixiert und das Rückenmark herauspräpariert. Die restlichen Tiere blieben noch 6 beziehungsweise 18 Wochen am Leben, um die auftretenden Spätreaktionen im Rückenmark nachweisen zu können. Die Ergebnisse sind jeweils im Vergleich zu gleichaltrigen und gleichschweren Kontrolltieren erhoben worden (Kontrolltier s. Abb. 1).

FIXATION DER TIERE

Vor Beginn des Eingriffs, der zur Supravitalfixation notwendig war, wurden die Tiere narkotisiert mit intraperitoneal gespritztem Nembutal (5o mg/Kilogramm Körpergewicht). Eine gleichzeitige Intraperitonealinjektion von Liquemin (5oo i.E. mg/Kilogramm Körpergewicht) sollte Thrombosen in den Gefäßen während der Durchspülung verhindern. Nach etwa fünfzehn bis zwanzig Minuten trat die Wirkung der Narkose ein. Herztätigkeit und Atmung der Tiere waren unbeeinträchtigt.
Nun wurde mit ventralen Schnitten die Brustwand eröffnet, wobei keine größeren Gefäße verletzt werden durften. In eine kleine Incision der linken Herzkammer wurde ein Herzkatheter eingelegt und befestigt. Anschließend wurde in einer Leistenbeuge die A.femoralis durchtrennt, um eine Ausfluß-

bahn für das Blut und das darauf folgende Durchspülungsmittel zu schaffen. So konnte die Vorspülung und anschließend die Fixationslösung über den Kreislauf direkt in Gehirn und Rückenmark eindringen.

Dadurch wurde das Rückenmark in lebendem Zustand fixiert und jede postmortale Veränderung der Zellen ausgeschlossen. Die nun sichtbaren Schäden konnten folglich alle auf eine direkte Schädigung durch die Bestrahlung zurückgeführt werden.

ZUSAMMENSETZUNG DER VORSPÜLUNG

250 ml Rheomacrodex
+ 100 ml eingestellter Michaelispuffer (ph 7,7 bei 37 ° C)
350 ml Vorspülung

Michaelisstammlösung: Na-acetat 1,9428 g
Veronal-Na 2,9428 g
ad 100 ml Aqua dest.

Einstellung des Puffers: 50 ml Stammlösung
+ 30 ml 0,1 n HCl
ad 250 ml Aqua dest. (ph 7,7)

ZUSAMMENSETZUNG DES FIXIERUNGSMITTELS

100 ml 25%iger Glutaraldehyd
80 ml Sjöstrand A
ad 400 ml Aqua dest.
27,2 ml Sjöstrand B mit 1 n HCl auf ph 7,8 einstellen
500 ml Fixierungslösung

Sjöstrand A: 9,714 g Na-acetat
14,714 g Veronal-Na
ad 500 ml Aqua dest.

Sjöstrand B: 20,15 g NaCl
1,05 g KCl
0,45 g $CaCl_2$
ad 250 ml Aqua dest.

Bei Durchspülung der Tiere wurden bei einem konstanten Druck von 12o cm Wassersäule zunächst 15o - 2oo ml der gepufferten Vorspülung mittels einer Infusion über den Herzkatheter in den Kreislauf eingeschleust. Nachdem alle Gefäße von Blut leergespült waren, wurde die Durchspülung mit dem Fixationsmittel fortgesetzt. Im Durchschnitt wurden circa 5oo ml verbraucht, um eine völlige Fixierung zu erreichen.

PRÄPARATION

Nach Entfernung der Haut und der Rückenmuskulatur wurden vom Kreuzbein her nach oben die einzelnen Wirbelbögen durchtrennt und das Rückenmark im Ganzen herauspräpariert. Anschließend blieb das Präparat noch etwa 18 Stunden in der Nachspülung, wodurch der Glutaraldehyd wieder herausgelöst wurde.

ZUSAMMENSETZUNG DER NACHSPÜLUNG

loo ml Sjöstrand A
34 ml Sjöstrand B
ad 5oo ml Aqua dest.
mit 1 n HCl auf ph 7,7 einstellen.

Nach der Nachspülung wurde das Rückenmark in 5 mm dicke Einzelblöcke zerlegt und dann eine Paraffineinbettung vorgenommen.

Von jedem Blöckchen wurden 8 µm dicke Rückenmarksquerschnitte hergestellt und gefärbt - erstens mit der RICHARDSON - Färbung und zweitens mit der Methode nach KLUVER - BARRERA.

RICHARDSON - FARBUNG

Die Paraffinschnitte wurden im Wärmeschrank getrocknet und anschließend bei Zimmertemperatur fünf Minuten in 1%ige Perjodsäure eingetaucht. Nach Abspülen in Aqua dest, und Trocknen im Wärmeschrank wurden die Schnitte sechs Minuten bei 5o °C gefarbt in einer Farbmischung aus 1%igem Azur II in Aqua dest. und 1%igem Methylenblau in 1%iger Boraxlösung. Die überschüssige Färbelösung wurde mit Aqua dest. abgespült und die Objektträger luftgetrocknet. Durch Eintauchen in Xylol wurden die Schnitte entparaffiniert und anschließend mit Kanadabalsam eingedeckt.

Ergebnis der Färbung:

Nervenzellen und Glialzellen wurden kräftig dunkelblau angefärbt, Nervenfasern und Gefäßwände waren in helleren Blautönen sichtbar. Die Markscheiden blieben hell.

KLUVER - BARRERA - FARBUNG

Diese Färbung ist eine kombinierte Kern- und Markscheiden-Färbung. Man benutzt dazu eine Luxol-Fast-Blue-Lösung, die folgendermaßen hergestellt wird: 0,25 g Luxol-Fast-Blue werden in 20 ml 10%iger Essigsäure aufgelöst und mit 380 ml 96%igem Isopropanol aufgefüllt. Das Ganze wird mit 96%igem Isopropylalkohol 1 : 4 verdünnt.
Zur Färbung wurden die Schnitte zunächst in Xylol entparaffiniert und nach Eintauchen in absoluten und 96%igen Alkohol zwei Stunden lang bei 50 °C im Wärmeschrank mit der oben beschriebenen Luxol-Fast-Blue-Lösung gefärbt. Anschließend wurden sie eine Minute in 96%igem Isopropylalkohol und kurz in Aqua dest. abgespült und zehn Sekunden in 0,01%ige Lithiumcarbonat-Lösung getaucht. Nun folgten fünf Minuten Abspülen in Aqua dest. und sechs Minuten Färben in Kresylviolett-Lösung bei 50 °C im Wärmeschrank. Zum Schluß kamen die Schnitte noch einmal zwei bis drei Minuten in 96%iges Isopropanol und zweimal je zehn Minuten in absoluten Alkohol. Bis zum Eindecken wurden sie wieder in Xylol eingestellt.

Ergebnis der Färbung:

Die Markscheiden waren leuchtend blau, die graue Substanz blaßgrün und die Kerne der Nerven- und Gliazellen in verschiedenen Blautönen angefärbt.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Jeweils vierundzwanzig Stunden nach der letzten Bestrahlung wurden die Ratten fixiert und das Rückenmark herauspräpariert.

1000 r

Die ersten Tiere wurden also sechs Tage nach Beginn der Bestrahlungsserie getötet. Zu diesem Zeitpunkt waren sie klinisch unauffällig. Aber trotz unverändertem Appetit hatten sie im Durchschnitt 5o bis loo g an Gewicht verloren.
Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung des Rückenmarks ergaben sich folgende Veränderungen:
Die meisten Nervenzellen waren im Vergleich zu denen des unbestrahlten Kontrolltieres vergrößert. Die Kerne waren stark angeschwollen und nur noch ganz hell anfärbbar, so daß die Nucleoli deutlich hervortraten (Abb. 2). Das Karyoplasma war nicht mehr einheitlich. Es war aufgelockert und sah wie geronnen aus.
Die Fortsätze der Nervenzellen, die durch die graue Substanz zur Peripherie hin ziehen, erschienen zum größten Teil aufgequollen.
Eine ähnliche Verquellung zeigen auch die Tractus der weißen Substanz (Abb. 3). Ob es sich dabei um eine ödematöse Erweiterung der Schwann'schen Scheide oder bereits um eine Schrumpfung der Axone handelt, kann lichtmikroskopisch nicht

entschieden werden. Wahrscheinlich aber lag bei der noch niedrigen Gesamtdosis eine Anschwellung der Schwann'schen Zellen vor, wie sie auch bei den Nervenzellen beobachtet wurde. Die übrigen Gliazellen waren in Form und Zahl unverandert. Die Kapillaren der grauen Substanz erschienen im Vergleich zum Kontrolltier ein wenig erweitert. Die Gefäßwände zeigten allerdings keine Veränderungen. Auch eine eventuell zu erwartende vermehrte Einwanderung von Leukozyten in die Umgebung der Gefäße war nicht eingetreten.

Zu vermerken ist noch, daß diese Reaktionen in allen Abschnitten des Rückenmarks gleich stark ausgeprägt waren.

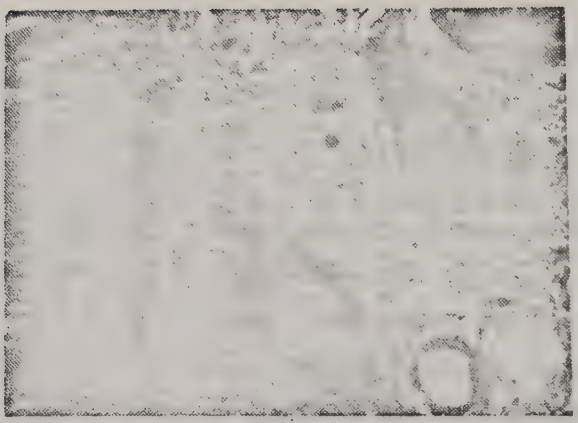

Abb. 1: Nervenzellen eines unbestrahlten Rattenrückenmarkes
Vergrößerung: 1 : 100

Abb. 2: Nervenzellen nach 1000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

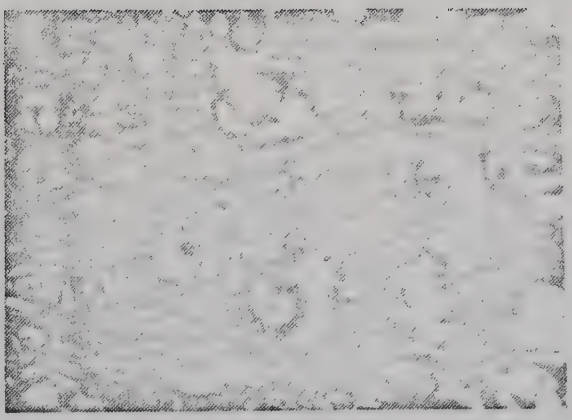

Abb. 3: Verquollene Tractus der weißen Substanz nach 1000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

2000 r

Nach 2000 r HD im Rückenmark wurden die nächsten Tiere getötet. Ihr Gewicht hatte sich in der Zwischenzeit nicht weiter vermindert.

Bei der histologischen Untersuchung des Rückenmarks erschienen alle Kerne der Nervenzellen stark vergrößert und aufgehellt. Der perinucleäre Raum war nur noch ganz schmal. Die Nissl-Substanz zeigte stellenweise beginnende Tigrolyse. Die Nucleoli ließen eine merkwürdige granuläre Entartung erkennen (Abb. 4). Die Kerne der Gliazellen waren deformiert und geschrumpft. Die ödematöse Verquellung der Nervenfasern hatte noch weiter zugenommen.

Die Gefäße waren erweitert, das Endothel war verbreitert, und um die Gefäße herum war ein leichtes Odem sichtbar.

Lymphozyten und Plasmazellen waren nicht sicher nachweisbar.

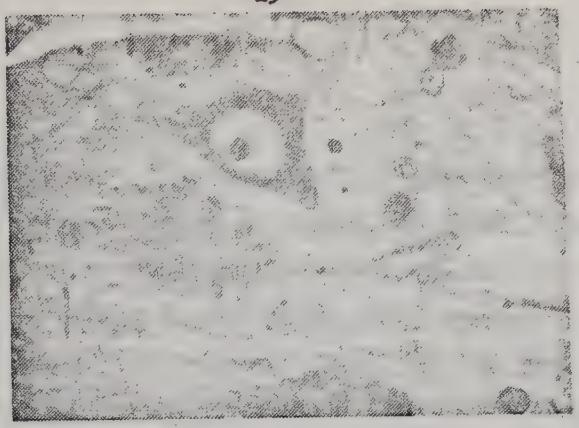

Abb. 4: Nervenzellen nach 2000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

3000 r

Nach 3000 r HD waren die Tiere vom äußeren Aspekt her kaum verändert. Ihr Gewicht betrug im Durchschnitt 350 g und ihr Verhalten zeigte keine Auffälligkeiten. Neurologische Ausfälle waren, soweit beurteilbar, nicht zu erkennen.
Dagegen wies das mikroskopische Bild des Rückenmarks ganz enorme, zum Teil schon irreversible Schäden auf. Fast alle Ganglienzellen zeigten starke Veränderungen. Die Kerne waren verquollen und die Nucleoli, soweit sie noch vorhanden waren, über die ganze Oberfläche fein granuliert. Die Nissl-Substanz war zu großen, intensiv angefärbten Schollen zusammengeballt. Nur im Bereich der Intumeszentia cervicalis und lumbalis konnte man noch einige Nervenzellen von normaler Größe und Form finden.
Die Gliazellen hatten sich stark vermehrt und eng um untergehende Nervenzellen herum gruppiert. Eine große Zahl der Gliazellen war pyknotisch (Abb. 5).
Die Schrumpfung der Traktus entsprach dem Bild bei 1000 und 2000 r HD. Nur im Hinterstrangsystem war die Schädigung weiter fortgeschritten. Im Goll- und Burdach'schen Strang war eine ausgeprägte Markscheidendegeneration sichtbar (Abb. 6).
Der Zentralkanal war mit einer homogen anfärbbaren Masse gefüllt und stellenweise völlig undurchgängig.

Die Wände der Gefäße waren erhalten, aber signifikant verdickt durch Endothelproliferation. Um sämtliche Gefäße waren starke Ödeme sichtbar. Die Gefäßlumina waren nach wie vor weit gestellt. Es fiel auf, daß vermehrt Erythrozyten in den Kapillaren lagen, dagegen kaum Lymphozyten und auch keine in die Umgebung infiltrierten Plasmazellen (Abb. 7).

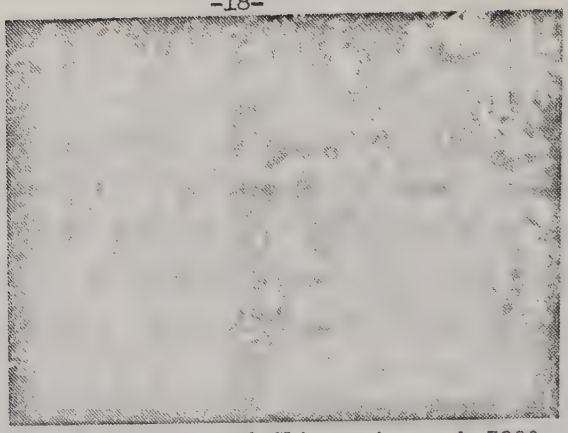

Abb. 5: Nerven- und Gliagewebe nach 3000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

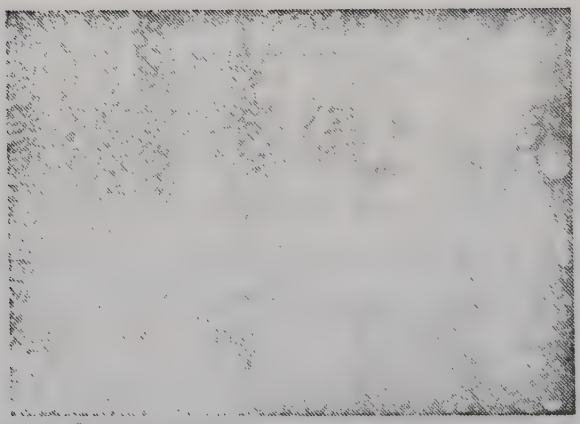

Abb. 6: Geschrumpfte Axone im Hinterstrang
nach 3000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

Abb. 7: Gefäßveränderung nach 3000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

4000 r

Nach einer Herddosis von 4000 r war der Allgemeinzustand der Ratten ziemlich reduziert, und ihr Gewicht hatte sich auf etwa 2oo bis 25o g vermindert.
Die Histologie zeigte, daß der größte Teil der Nervenzellen zugrunde ging. Die Nissl-Skeletierung hatte sich feinstäubig aufgelöst, die Kerne waren zerfallen und Nucleoli nicht mehr vorhanden. In ihrer Farbe waren die Nervenzellen kaum vom umgebenden Gewebe zu unterscheiden (Abb. 8).
Die Traktus der weißen Substanz bestanden nur noch aus einem dichten Gliafilz mit leeren Räumen an Stelle der Axone (Abb.9). Im Hinterstrang war die Demyelinisation noch weiter fortgeschritten (Abb. 1o). Der Zentralkanal war mit einem lichtmikroskopisch homogen aussehenden Material verstopft.
Die Gliazellen waren um die untergehenden Nervenzellen und um die Gefäße herum stark vermehrt. Die meisten Gliazellen hatten zwei und mehr Nucleoli, auch schienen etliche Gliazellen wie die Nervenzellen zugrunde zu gehen.
Um die Gefäße herum waren weiterhin starke Ödeme sichtbar. Die Gefäße selbst waren erheblich erweitert. Die Gefäßwände waren verbreitert, das verdickte Endothel hatte sich stellenweise ganz abgehoben und eingerollt. Häufig verstopften Erythrozyten die Lichtungen der Kapillaren, einige Erythrozyten waren auch in das umgebende Gewebe übergetreten. Aber eine Infiltration von Lymphozyten und Plasmazellen war auch in diesem Stadium der Bestrahlungsreaktion nirgends zu finden (Abb. 11).

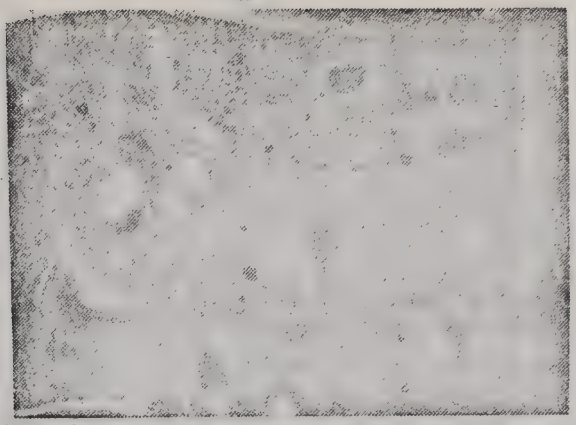

Abb. 8: Zerstörte Nervenzellen und Gliazellen
nach 4000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

Abb. 9: Weiße Substanz nach 4000 r
Vergrößerung: 1 : 1oo

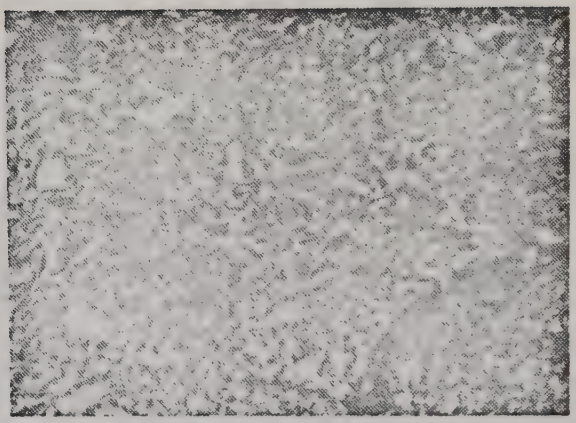

Abb. 1o: Demyelinisation im Hinterstrang
nach 4000 r
Vergrößerung: 1 : 4o

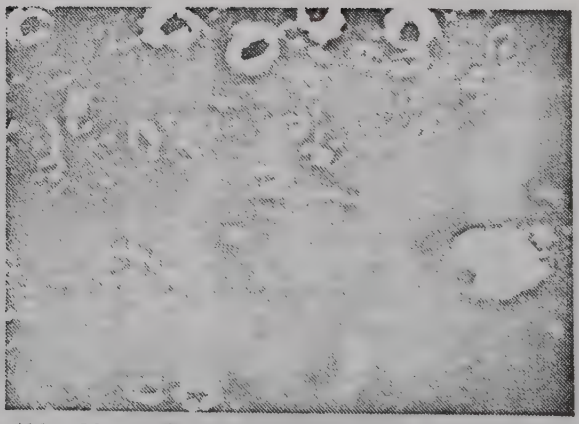

Abb. 11: Gefäßwandveränderung nach 4000 r
Vergrößerung:1: 1oo

SPATREAKTION NACH SECHS WOCHEN

Mit einer Herddosis von 4000 r wurde die Bestrahlungsserie abgeschlossen. Einige Tiere blieben noch länger am Leben. Nach sechs Wochen wogen sie noch etwa 150 g.
Die mikroskopische Untersuchung zu diesem Zeitpunkt ergab eine Rückbildung der Odeme um die Gefäße. Die Gefäßwände waren zwar verdickt, die Lumina aber immer noch ziemlich weit. Außerdem waren zahlreiche neue Kapillaren in die graue Substanz eingesprosst, die alle in vertikaler Richtung verliefen. Längsgeschnittene, horizontal verlaufende Gefäße, wie man sie bei den Kontrolltieren häufig sehen konnte, waren nicht mehr vorhanden (Abb. 12).
Die Nervenzellen waren in ihrer Zahl stark reduziert, teilweise waren nur noch Bruchstücke ehemaliger Nervenzellen zu erkennen. Das Gliagewebe war überall reichlich verdichtet, die Gliazellen hatten größtenteils mehrere Nucleoli.
Im Hinterstrang waren die einzelnen Tractus ganz stark geschrumpft und demyelinisiert, stellenweise sah das Gewebe fast homogen aus (Abb. 13). Im Vorder- und Seitenstrang waren einzelne runde Nekroseherde entstanden.

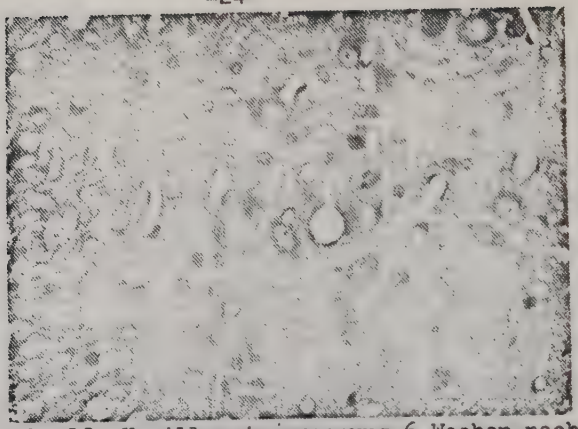

Abb. 12: Kapillareinsprossung 6 Wochen nach Absetzung der Bestrahlung
Vergrößerung: 1 : 4o

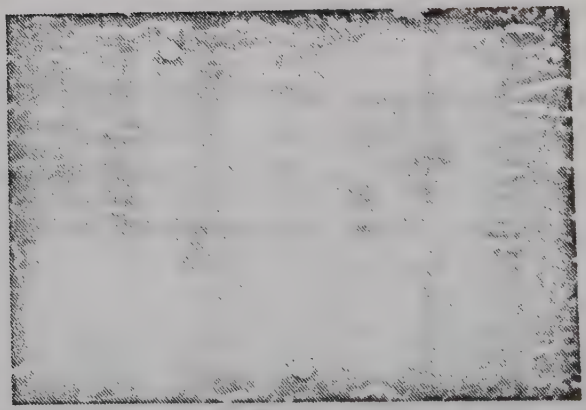

Abb. 13: Zerstörte Traktus 6 Wochen nach Ende der Bestrahlung
Vergrößerung: 1 : 4o

SPATREATKION NACH ACHTZEHN WOCHEN

Die letzten Tiere wurden 18 Wochen nach Beendigung der Bestrahlung getötet. Sie waren in äußerst stark reduziertem Zustand und wogen noch 12o g.
Die Rückenmarkschnitte glichen bei mikroskopischer Betrachtung kaum noch nervösem Gewebe.
Nervenzellen waren nur noch vereinzelt zu sehen. Auch die Zahl der Gliazellen hatte sich weiter erheblich reduziert auf eine geringere Zahl als bei den unbestrahlten Tieren vorhanden war. Zahlreiche neu eingesprosste Kapillaren sowie Nekrosebildungen in der weißen Substanz ergänzten dieses Bild einer erheblichen Strahlenschädigung bei manchmal erforderlichen therapeutischen Strahlendosen auf das Rückenmark (Abb. 14).
Diese Reaktion beruht auf primärer Schädigung an Nervenzellen und Nervenfasern und gleichzeitig auch auf sekundären Veränderungen infolge Gefäßschädigung.

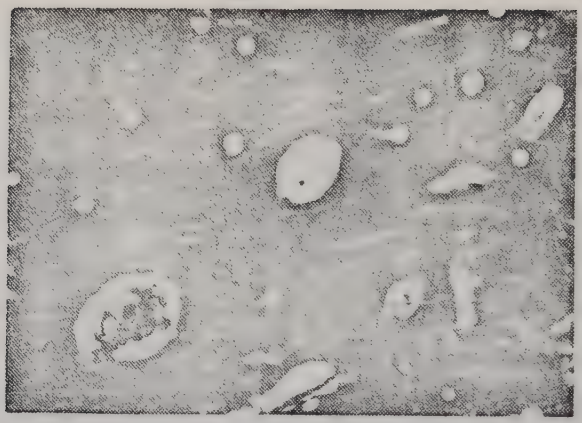

Abb. 14: Zerstörte graue Substanz 18 Wochen nach Bestrahlung
Vergrößerung: 1 : 100

DISKUSSION

Wie bereits in der Einleitung erwähnt wurde, gehen die Ansichten der Autoren über die Ursachen der Rückenmarksschädigungen nach Bestrahlung weit auseinander. Die zur Klärung unternommenen Untersuchungen zeigen auch sehr unterschiedliche Ergebnisse.

So fanden zum Beispiel N. MALAMUD et al. (16) bei der Obduktion in zwei letal ausgegangenen Fällen von Nekrosebildungen im Rückenmark eine weitaus geringere Schädigung am Gefäß- und Bindegewebsapparat als an den Nervenzellen.

DAVIDOFF und Mitarb. (7) stellten nach Bestrahlung von Gehirn und Rückenmark an Affen fest, daß vor allem Nervenzellen und Glia von den Schäden stark betroffen waren, während die Blutgefäße überraschend nur geringe Veränderungen aufwiesen.

SCHOLZ et al. (24) nahmen fraktionierte Röntgen-Bestrahlung von 3ooo bis 1oooo r am Rückenmark von Kaninchen vor. Dabei sahen sie an den Nervenzellen eine langsam ablaufende Veränderung in der Ergastoplasmastruktur mit Skeletierung der Nissl-Substanz lange vor Auftreten der typischen Schäden an den Gefäßen, und sie deuteten dies als Zeichen einer primären strahlenbedingten Parenchymschädigung.

ZULCH (29) vertritt 196o die Ansicht, daß das durch Markscheidenschädigung frei werdende Myelin als Antigen wirksam werde und die Gewebsnekrosen Folgen von Antigen -Antikörper-Reaktionen seien.

Diese Theorie wird aber 1961 von DIHLMANN (8) widerlegt, der nachweist, daß die Spätschäden in anderen Organen denen im Nervengewebe ähnlich sind und daß außerdem Spätschäden an peripheren Nerven nicht bekannt sind.

Die meisten Autoren aber halten die Gefäßveränderungen und die dadurch bedingte Ischämie der betroffenen Rückenmarksabschnitte für die eigentliche Ursache der Schädigungen. In den meisten Berichten von pathologischen Untersuchungen bei Strahlenspätschäden am Rückenmark wurden Einengung der Gefäßlumina durch Endothelproliferation und Hyalinose der Gefäßwände beschrieben, die für die Entstehung von Herdnekrosen verantwortlich gemacht werden (4, 26, 18, 27, 28, 17, 9, 21, 22, 23, 25).

LARSSON et al. (13) führten einzeitige Bestrahlungen des Rückenmarks von Kaninchen durch mit kleinen Strahlenbündeln (1,5 und 10 mm Durchmesser) von 185 MeV-Protonen. Dabei fanden sie neun Tage P.irr. akute Nekrosen des bestrahlen Gewebes, für deren Entstehung eine primäre Strahlenschädigung der Blutgefäße verantwortlich gemacht wurde.

Zu dem gleichen Schluß kamen O.T. BAILEY und seine Mitarbeiter (2), die mit -Strahlen von extradural am Rückenmark angebrachtem Tantal^{182} Herddosen von 210 bis 38000r verabreichten. Sie fanden zwar einen Verlust von Ganglienzellen in den bestrahlten Bezirken, aber im Vordergrund standen Gefäßveränderungen mit entzündlichen Infiltrationen der Gefäß-

wände, später Bindegewebs- und Endothelproliferation, teilweise auch völliger Verschluß der Gefäße. Die Erweichungen und Nekrosen in der Rückenmarkssubstanz bezeichneten sie als sekundäre Infarzierung, die auf den Gefäßveränderungen basiert.

Yu.P. LIKHACHEV et al. (14) stellten in einer Arbeit, in der sie an Hand von 44 Fällen die Pathogenese der Schädigung des Rückenmarks diskutierten, fest, daß am Anfang die Parenchymschäden überwiegen, später aber die Gefäßveränderungen im Vordergrund stehen.

SCHOLZ (21, 22, 23) fand bei einzeitiger Röntgen-Bestrahlung an Hunden "Frühreaktionen", die als flüchtige perivasculäre, entzündliche Zellinfiltrationen vier bis sechs Wochen nach Bestrahlung auftraten und etwa drei Wochen später wieder verschwanden. Nach mehreren Monaten aber traten schwere fortschreitende Zerfallserscheinungen am nervösen Gewebe auf und Schrankenstörungen der Gefäße mit Austritt von amyloidähnlichen, hochmolekularen Eiweißkörpern. SCHOLZ nannte das eine "plasmatische Infiltrationsnekrose".

Das Ergebnis unserer Arbeit ist bei dieser Gegenüberstellung in die Gruppe der erstgenannten Autoren einzureihen. Wir fanden zwar auch zum Teil erheblich verdickte Gefäßwände, aber die Lumina waren im Vergleich zu denen der Kontrolltiere eher noch erweitert. Außerdem setzte nach Abschluß der Bestrahlung eine Neueinsprossung von Kapillaren in die graue Substanz ein. Eine Minderdurchblutung der Grisea lag also

zu keinem Zeitpunkt vor. Allerdings haben wir in der grauen Substanz auch keine Nekrosen gesehen. Einige runde Nekroseherde im Vorder-Seiten-Strang nach einer Dosis von 4000 r und Überlebenszeit von sechs Wochen können durchaus um obliterierte Kapillaren der weißen Substanz entstanden sein, da hier eine weitaus geringere Gefäßneubildung zu sehen war. Der große demylinisierte Bereich im Hinterstrang, der bereits bei 3000 r HD auftrat, ist wahrscheinlich infolge primärer Strahlenschädigung der Neurone entstanden.
Im Vordergrund der von uns beobachteten Schädigungen aber steht der Untergang von etwa 80 % der Nervenzellen, der schon ab 3000 r HD einsetzte und seinen Höhepunkt etwa sechs Wochen nach Beendigung der Bestrahlung erreichte, ebenso wie die starke Demyelinisation der Traktus mit vollständigem Schwund der Axone bei 4000 r HD.
Auch eine Infiltration von Leukozyten, Lymphozyten und Plasmazellen in die Umgebung der Gefäße konnte nirgends festgestellt werden, was bei einer entzündlichen Reaktion zu erwarten gewesen wäre.

Yu.P.LIKHACHEV et al. (14) haben in ihrer Arbeit festgestellt, daß eine Myelitis nur ganz selten akut auftritt und sich meistens erst nach einigen Monaten entwickelt. Vielleicht wäre bei längerer Überlebenszeit bei unseren Tieren schließlich auch noch eine entzündliche Infiltration erfolgt.

Bereits 1900 wurden die ersten tierexperimentellen Untersuchungen über Strahlenschäden am Rückenmark unternommen. BEAUJARD und LHERMITTE (3) bestrahlten das Rückenmark von Kaninchen mit Röntgenstrahlen von 25 HED. Als Reaktion des Gewebes fanden sie histologische Veränderungen im Vorderstrang im Sinne einer Markscheidendegeneration und eine Erweiterung des Zentralkanals.

1926 strahlte GABRIEL (10) innerhalb von 10 Tagen Röntgenstrahlen von 4 1/2 HED auf ein Rückenfeld von Hunden ein. Nach vier Monaten traten bei den Tieren Lähmungserscheinungen auf. Mikroskopisch stellte GABRIEL in dem bestrahlten Rückenmarksbezirk eine starke Erweiterung und Füllung der Gefäße fest mit Blutungen ins Gewebe. An den Blutungsstellen war das Gewebe zerstört. An Ganglien- und Gliazellen konnte er keine sichtbaren Veränderungen erkennen. Auch die Markscheiden waren gut erhalten und angefärbt.

1958 untersuchte Alfred BREIT (5) die Wirkung fraktionierter Röntgenbestrahlung auf das Rückenmark bei Hunden und Kaninchen. Zunächst strahlte er 4800 r HD in 24 Tagen auf kleine umschriebene Bezirke ein. Vier Monate später stellten sich Paraplegien ein. Bei der histologischen Untersuchung stellte BREIT große nekrotische Herde an den Hinterwurzeln und im Hinterstranggebiet fest und kleinere Herde im Vorder-Seiten-strang, außerdem eine Meningealfibrose.
Nach 7000 r HD in 34 Tagen zeigten sich vier Monate nach der Bestrahlung ebenfalls deutliche Nekroseherde im Vorder-Seitenstrang und neben den Hinterwurzeln.

Ein Teil der Tiere wurde nach einer Bestrahlung von 4800 r HD bereits acht Tage später getötet. Dabei waren mit der Markscheidenfärbung keine sicheren histologischen Veränderungen nachzuweisen, lediglich eine geringere Anfärbbarkeit in der Peripherie war festzustellen. BREIT kam zu dem Schluß, daß Frühschäden nur elektronenmikroskopisch oder histochemisch nachgewiesen werden könnten. Über Veränderungen an Nervenzellen und Gliagewebe hat er keine Aussagen gemacht.
Wir dagegen konnten bei unseren Untersuchungen neben den ausgedehnten Reaktionen der grauen Substanz bereits im Frühstadium deutliche Veränderungen der weißen Substanz feststellen und zwar zunächst im Bereich des Hinterstranges. Die Nekroseherde im Vorder-Seitenstrang sind allerdings auch erst nach sechs Wochen aufgetreten.

J.ZVÁRA et al. (30) führten letale Ganzkörperbestrahlungen bei 40 weißen Ratten durch und untersuchten die Veränderungen im Bereich der ventralen, spinalen Säulen im cervicalen Teil des Rückenmarks. Dabei fanden sie zwölf Stunden p.irr. Rückenmarksödeme mit Intumeszenz der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer. Nach 24 und 48 Stunden zeigte sich das gleiche Bild. Am dritten und vierten Tag waren die Zellen pyknomorph und hatten polymorphe Kerne.
Diese schweren frühzeitigen Alterationen sind aber nicht mit unseren Ergebnissen zu vergleichen, da wir mit therapeutischen Strahlendosen arbeiteten und ZVÁRA et al. bis zur Letaldosis bestrahlten.

Einige Arbeiten sind veröffentlicht worden mit phasenkontrastmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Strahlenveränderungen an Nervengewebe.

K.H.ANDRES et al. (1) bestrahlten Rattenspinalganglien mit 185 MeV-Protonenstrahlen bis 2o Krad aus einem 23o cm-Synchrocyclotron in einem Zeitraum von 18 Tagen.
Im Initialstadium fanden sie 18 Stunden p.irr. kreis- und ringförmige Aufhellungen im Karyoplasma und nach 24 Stunden Verlagerungen des Ergastoplasmas an die Zellperipherie. Die Mitochondrien wanderten zum Kern hin. Im endoneuralen Bindegewebe war keine Vermehrung der Satellitenzellen nachzuweisen. Auffallend war eine starke Volumzunahme der Kapillarendothelien mit Mikrovilli-Bildung gegen das Lumen.
Im Intermediärstadium 2 1/2 bis 4 1/2 Tage p.irr. zeigte sich eine beginnende Auflösung der Ribosomen und endoplasmatischen Zisternen, eine grobvakuoläre Desintegration und Zerfall einzelner Ganglienzellen und kontrastreiche Körnchenansammlungen zwischen Basalmembran und Endothel der Kapillaren.
Das degenerative Stadium begann 6 1/2 Tage p.irr. mit Chromatolyse, vakuolärer Umwandlung der Zellen, Abrundung der Mitochondrien und Ersatz einzelner Cristae durch Vesikel. Im Cytoplasma erschienen Cytosomen mit amorphem Inhalt und dunkle, aus konzentrisch geschichteten Lamellen bestehende Körper.
17 1/2 Tage p.irr. stellten ANDRES et al. eine "gewisse Restitution" der Zellschäden fest.

QUASTEL und POMERAT (19) untersuchten mit dem Phasenkontrastmikroskop Spinalganglienzellen von neugeborenen Ratten in Gewebskulturen nach Bestrahlung mit Co^{60}- -Strahlen. Die absorbierten Dosen lagen zwischen 5ooo und 1oo.ooo r. Es zeigten sich Schrumpfungen des Cytoplasmas und der Zellkerne. Die cytoplasmatische Struktur war verändert, die Kerne waren zur Peripherie gewandert.
Diese morphologischen Alterationen traten bei 72oo r nach einer Woche deutlich in Erscheinung, bei 2o5oo r nach vier Tagen, bei 1oo.ooo r waren bereits nach drei bis vier Tagen die Zellen völlig destruiert.
Diese Ergebnisse zeigen deutlich die Abhängigkeit der Veränderungen von der Dosis, sowohl was die Schwere der Schäden betrifft, als auch die Zeitspanne bis zum Auftritt der Zerstörungen.

Diese Abhängigkeit der Rückenmarksschädigung von der Dosis und der zeitlichen Dosisverteilung bestätigt Alfred BREIT (6) in seiner Arbeit über die Strahlentoleranz des Rückenmarks, die von Untersuchungen an Menschen ausgeht und gestützt wird durch Tierversuche an Hunden und Kaninchen.

Über diese Zusammenhänge können wir mit unseren Ergebnissen zwar keine Aussagen machen, da wir fraktioniert mit einer konstanten Dosis von 2oo r und mit regelmäßigen Abständen der Bestrahlungen arbeiteten.

Aber die Schädigung an Nervenzellen, die wir lichtmikroskopisch beobachtet haben, können durchaus mit den oben genannten elektronenmikroskopisch untersuchten Veränderungen erklärt werden.

Es wäre deshalb interessant, unsere Versuche mit elektronenmikroskopischen und histochemischen Untersuchungen fortzusetzen.

Ein wichtiger Gesichtspunkt bei der Auswertung unserer Experimente war die Frage, zu welchem Zeitpunkt die strahlenbedingten Schädigungen bereits einen irreversiblen Stand erreicht hatten. Vielfach hegten die Therapeuten die Hoffnung, daß man heute bei der Anwendung schneller Elektronen zur Tumorbestrahlung höher dosieren könnte, ohne das angrenzende zentralnervöse Gewebe allzu stark zu schädigen. Bei der Röntgenbestrahlung wurde bisher eine Maximaldosis von 3ooo r HD im allgemeinen nicht überschritten. Außerdem wurde die Strahlenmenge stark fraktioniert, die 3ooo r wurden etwa über einen Monat verteilt, so daß dem Gewebe dazwischen immer Gelegenheit zur Regeneration gegeben wurde. Im Bedarfsfall wurden die Bestrahlungsserien nach circa drei Monaten wiederholt. Diese Vorsichtsmaßnahmen reichten jedoch häufig nicht aus, um die oft erst nach Monaten oder Jahren auftretenden Spätschäden auszuschalten, die nachweislich meistens den Gefäßveränderungen zugeschrieben werden können. (4; 9; 17; 18; 21; 22; 23; 25; 26; 27; 28).

Die relativ gute Verträglichkeit der Hochvolttherapie durch die Patienten ließ vermuten, daß schnelle Elektronen wesentlich geringere Schäden verursachten. Leider zeigen die Ergebnisse unserer Experimente, daß das eine Täuschung ist. Bereits bei 3000 r HD traten trotz sorgfältiger Fraktionierung von jeweils nur 200 r pro Tag Schäden auf, die nicht mehr ganz rückbildungsfähig sind. Ab 4000 r HD aber war die Schädigung der Markscheiden und der Untergang einer großen Anzahl von Nervenzellen so deutlich, daß eine weitgehende Normalisierung der Funktionen

nicht mehr erwartet werden konnte.
Auffällig war, daß die bestrahlten Tiere trotz erheblicher Schädigung ihres Zentralnervensystems bei 3000 r vom klinischen Aspekt her keine Auffälligkeiten aufwiesen. Bei 4000 r dagegen waren sie in einem stark reduzierten Zustand, was sich vielleicht aber auch so erklären läßt, daß die Reaktion des Organismus erst allmählich das volle Ausmaß erreichte, und die mit 3000 r bestrahlten Ratten nach vier Wochen eventuell die gleichen Symptome aufgewiesen hätten.
Bemerkenswert ist außerdem, daß nach unseren Beobachtungen die Reaktion der Gefäße erst relativ spät einsetzte, und die Wandveränderungen keineswegs eine Minderdurchblutung des Gewebes verursachten. Vielmehr zeigte das Spätstadium eine vermehrte Ausbildung des Kapillarnetzes, ähnlich einer Organisation von nekrotischem Gewebe, so daß man erwarten kann, daß die durch Ischämie bei Röntgenstrahlen beobachteten Spätschäden bei Anwendung schneller Elektronen wahrscheinlich nicht eintreten.

Abschließend also kann man sagen, daß im Bezug auf Schädigung des Nervengewebes die Hochvolttherapie keine Vorteile bringen wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Zwanzig Ratten wurden fraktioniert an fünf Tagen in der Woche mit schnellen Elektronen mit einer Energie von 42 MeV mit einer Einzeldosis von 2oo r/Tag bestrahlt. Nach 1ooo r, 2ooo r, 3ooo r und 4ooo r HD wurden die Tiere supravital fixiert und das Rückenmark herauspräpariert.
Die histologische Untersuchung ergab bereits nach 1ooo r Hd deutliche Veränderungen der Nervenzellen und Nervenfasern, wogegen die Gefäße unbeschädigt schienen.
Nach 2ooo r HD traten erstmals geringe Gefäßveränderungen mit Ödemen auf.
Nach 3ooo r HD waren alle Nervenzellen stark geschädigt, das Gliagewebe war dichter und die Gefäße trotz Endothelproliferationen erweitert. Außerdem waren starke Ödeme um die Gefäße vorhanden und eine beginnende Demyelinisation im Hinterstrang.
Nach 4ooo r HD gingen ein großer Teil der Nervenzellen und auch einige Gliazellen zugrunde. Die restlichen Gliazellen waren pyknotisch und hatten teilweise mehrere Nucleoli. Die Traktus der weißen Substanz bestanden fast nur noch aus einem Gliafilz.
Bei einer Überlebenszeit von sechs Wochen hatten sich die Gliazellen stark vermehrt und zahlreiche neue Kapillaren waren in die graue Substanz eingesprosst. Die weiße Substanz war stark demyelinisiert. Im Vorder-Seitenstrang waren kleine runde Nekroseherde sichtbar.

18 Wochen nach Bestrahlung hatte sich das Gliagewebe wieder stark zurückgebildet. Nervenzellen waren nur noch ganz wenige vorhanden. Am auffälligsten war die starke Einsprossung neuer Kapillaren in die graue Substanz.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Anwendung schneller Elektronen im Vergleich zu Röntgenstrahlen in Bezug auf Schädigungen des Nervengewebes keine Vorteile bringen wird.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ANDRES, K.H., LARSSON, B. and REXED, B.
Zur Morphogenese der akuten Strahlenschädigung in Rattenspinalganglien nach Bestrahlung mit 185 MeV-Protonen.
Z.Zellforsch. 60 (1963), 532-559

2. BAILEY, O.T., BERING jr., E.A., McLAVRIN, R.L. and INGRAHAM, F.D.
Histological reaction to irradiation by tantalum 182 in the central-nervous system, with special referance to the time factor.
III.Congr.Internat.Neuropath., Brüssel 1957, Rapports et Discussions p. 265

3. BEAUJARD, E. et LHERMITTE
La radiothérapie de la syringomyélie.
Sem.méd. 17 (1907), 193

4. BONDUELLE, BOUYGUES, P. et ELRAMY, A.
Myélopathie cervicale post-radiothérapique.
Rev.neurol. 99 (1958), 310-313

5. BREIT, A.
Über die Wirkung fraktionierter Röntgen-Bestrahlung auf das Rückenmark beim Tier.
Strahlentherapie 106 (1958), 446-450

6. BREIT, A.
Die Strahlentoleranz des Rückenmarks.
Strahlenther.Sonderbd. 62 (1966), 77-83

7. DAVIDOFF, L.M., DYKE, C.G., ELSBERG, E.A. and TARLOV, J.M.
Effects of radiation applied directly to the brain and spinal cord.
Radiology 31 (1938), 451

8. DIHLMANN, W.
Die Strahlenspätschäden im ZNS und ihre Beziehungen zu Strahlenschädigungen in anderen Organen
Med.Welt 1961, 1375-80

9. DYNES, J.B. and SMEDZIL, M.
Radiation myelitis.
Amer.J.Roentgenol. 83 (1960) 78-87

10. GABRIEL, G. — Die Beeinflussung von Tierorganen durch Röntgenbestrahlung. Strahlentherapie 22 (1926), 107-124

11. GIRARD, P.E., TOMMASI, M. et. ROCHET, M. — La radionécrose post-thérapeutique tardive du névraxe. Ann.Anat.path., N.S. 9 (1964), 165-180

12. ITABASHI, H.H., BEBIN, J. and DEJONG, R.N. — Postirradiation cervical myelopathy. Report of two cases. Neurology (Minneapolis) 7 (1957), 844-852

13. LARSSON, B., LEKSELL, L., REXED, B. and SOURANDER, P. — Effect of high energy protons on the spinal cord. Acta radiol. (Stockh.) 51 (1959) 52-67

14. LIKHACHEV, Y.P. and NEMIROVSKAYA, N.A. — Injuries of the spinal cord in radiation therapy. Med.Radiol.(Mosk.) 8 (1963), 27-33

15. LYMAN, R.S., KUPALOV, P.S. and SCHOLZ, W. — Effect of roentgen rays on the central nervous system. Results of large doses on the brain of adult dogs. Arch.Neurol.Psychiat.(Chicago) 29 (1933) 56

16. MALAMUD, N., BOLDREY, E.B., WELCH, W.K. and FADELL, E.J. — Necrosis of brain and spinal cord following X-ray therapy. J.of Neurosurg. 11 (1954) 353-362

17. MOLTER, F., HENRY, J.A. et BRIKAYE, J. — A propos d'un cas de radiolésions survenues chez un enfant irradié pour un médulloblastome du cervelet. J.belge Radiol. 38 (1955) 465-474

18. PECH, A., CLEMENT, R., BOUDOURESQUES, J. et AVERIANOS, R. — A propos d'une observation de myélite cervicale post-cobalttherapique. J.franç. Oto-rhino-laryng. 10 (1961) 447-453

19. QUASTEL, M.R. and POMERAT, C.M. — Irradiation of cells intissue culture VII. Morphological observation of neurons following cobald 60-irradiation of dorsal roof ganglia from the newborn rat. Z.Zellforsch.59 (1963), 214-223

20. SCHMIDT, R. — Die strahleninduzierten Defekte des Zentralnervensystems der Säugetiere und des Menschen unter besonderer Berücksichtigung des Groß- und Kleinhirns. Biol.Rdsch. 2 (1964), 26-32

21. SCHOLZ, W. — Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung von Röntgenstrahlen. Z.ges.Neurol.Psychiat. 150 (1934), 765

22. SCHOLZ, W. — Die morphologischen Veränderungen des Hirngewebes unter dem Einfluß von Röntgen- und Radiumstrahlen. Atti.I.Congr.Internat.Elettro-radiobiologica 2 (1934), 1051

23. SCHOLZ, W. — Über die Empfindlichkeit des Gehirns für Röntgen- und Radiumstrahlen. Klin.Wschr.14 (1935), 189

24. SCHOLZ, W., DUCHO, E.G. und BREIT, A. — Experimentelle Röntgenspätschäden am Rückenmark der erwachsenen Kaninchen. Psychiat.Neurol.jap. 61 (1959), 417

25. SCHÜMMELFEDER, N. — Die experimentelle Strahlenschädigung des Zentralnervensystems. Ergebn.allg.Path.path.Anat. 42 (1962), 34-92

26. SEBEK, A., RUBES, R. and VENCLIK, H. — Über Spätveränderungen am Rückenmark nach der wegen eines Larynxcarcinoms vorgenommenen Strahlentherapie. Strahlentherapie 108 (1959), 567-573

27. WACHTLER, F. — Über Schädigungen im zervikalen Abschnitt des Rückenmarks nach therapeutischer Rö-Bestrahlung in der Halsregion. Strahlentherapie 119 (1962), 97-103

28. WEINGARTEN, K. und WACHTLER, F. — Über Schädigung des Halsmarks nach Röntgenbestrahlung. Z.Nervenheilkunde 21 (1964), 203-222

29. ZÜLCH, K.J. Über die Strahlensensibilität der Hirngeschwülste und die sogenannte Strahlenspätnekrose des Hirns. Dtsch.med.Wschr. 85 (1960), 293-298

30. ZVÁRA, J., PRIBYS, R. and HRADIL, I. Changes in the region of ventral spinal columns in rats irradiated by a letal dosis of X-rays. Csl.Morf. 12 (1964), 40-49

DANKSAGUNG

Hiermit danke ich Herrn Prof. Dr. Franz SOMMER, Direktor des Med. Strahleninstitutes Homburg, für die Überlassung des Themas und die freundliche Bereitstellung der zu meiner Arbeit notwendigen Einrichtungen.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr.med.Walter HAUN für die Unterstützung bei allen auftretenden Problemen.

Lebenslauf

Ich, Beate Maria Bruce-Micah geb. Peiffer, wurde am 20. Oktober 1947 in Ottweiler als erstes Kind der Eheleute Karl Peiffer und Irene geb. Fasel geboren. Ich bin römisch-katholisch.

Vom Herbst 1953 bis Ostern 1957 besuchte ich die Katholische Volksschule in Ottweiler. Im April 1957 trat ich in das Staatliche Mädchenrealgymnasium St. Wendel ein und legte hier im März 1966 meine Reifeprüfung ab.

Vom Sommersemester 1966 bis Sommersemester 1972 war ich in der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes immatrikuliert. Hier bestand ich im April 1967 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, im April 1969 die Arztliche Vorprüfung und im 1. Halbjahr 1972 die Arztliche Prüfung.

Ab Oktober 1972 werde ich als Medizinalassistentin im Kreiskrankenhaus Ottweiler arbeiten.

Ich bin verheiratet und habe ein Kind.

Beate Bruce-Micah